

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit kanker adalah penyakit yang muncul akibat pertumbuhan sel jaringan tubuh yang tidak normal yang berubah menjadi sel kanker. Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Pada tahun 2012, sekitar 8,2 juta orang meninggal dunia karena menderita penyakit kanker, terutama kanker payudara yang mempunyai peran terbesar sebagai penyebab kematian setiap tahunnya (Kemenkes RI, 2015). Di Indonesia prevalensi penyakit kanker cukup tinggi. Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar tahun 2013, prevalensi kanker di Indonesia sekitar 330.000 orang. Frekuensi tertinggi dari penyakit kanker di Indonesia adalah kanker payudara dan leher rahim pada perempuan. Berdasarkan estimasi Globocan, International Agency for Research on Cancer (IARC) tahun 2012, tingkat kejadian kanker payudara sebesar 40 per 100.000 perempuan, kanker leher rahim 17 per 100.000 perempuan. Berdasarkan data Sistem Informasi Rumah Sakit tahun 2010, kasus rawat inap kanker payudara sebesar 28,7% dan kanker leher rahim sebesar 12,8% (Kemenkes RI, 2014).

Pengobatan kanker ditujukan untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan sel kanker sehingga dapat memperpanjang harapan hidup. Pengobatan tersebut dapat dilakukan dengan cara pembedahan, radiasi, kemoterapi, dan terapi hormon. Obat-obat antikanker yang selama ini digunakan untuk terapi ada yang berasal dari hasil sintesis seperti 5-fluorourasil, metotreksat, siklofosfamid maupun produk alam dari tanaman seperti paklitaksel, doksetaksel, vinkristin, vinblastin, sedangkan produk alam dari bakteri yaitu golongan antrasiklin, bleomisin, mitomisin, dan daktinomisin (Katzung, 2007). Namun, obat-obat tersebut menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan antara lain mual, muntah, rambut rontok, dan berkurangnya jumlah sel leukosit (Medicastore, 2011). Selain itu, pembiayaan untuk terapi kanker membutuhkan biaya yang

cukup tinggi (Kemenkes RI, 2015). Dari permasalahan tersebut, usaha untuk menemukan obat antikanker yang efektivitasnya tinggi dan aman masih terus berlanjut. Para peneliti melakukan eksplorasi bahan alam untuk mendapatkan obat antikanker yang baru dengan cara memanfaatkan mikroba, tanaman, dan hewan laut (Sunaryanto *et al.*, 2010).

Tanah merupakan salah satu bahan alam yang kaya mikroba. Kultur mikroba tanah telah menjadi sumber yang sangat produktif untuk dijadikan obat misalnya doksorubisin hidroklorida, bleomisin, daunorubisin, dan mitomisin (Mohamed, 2012). Tetapi penelitian yang terkait dengan kegiatan biopotensial metabolit antikanker dari jamur yang diisolasi dari tanah masih sangat terbatas. Jamur yang diisolasi dari tanah telah terbukti mempunyai aktivitas antikanker seperti penelitian yang dilakukan oleh Mohamed (2012) yaitu isolat *Fusarium solani* dan *Emericella nidulans* dari tanah Mesir mempunyai aktivitas antikanker terhadap sel kanker Caco-2 dengan masing-masing nilai IC_{50} sebesar $6,24 \pm 5,21$ $\mu\text{g/mL}$ dan $9,84 \pm 0,36$ $\mu\text{g/mL}$. Isolat jamur *Eutypella* sp. D-1 yang di isolasi dari tanah lintang tinggi Arktik mempunyai aktivitas antikanker terhadap sel kanker MCF-7 dengan nilai IC_{50} sebesar $9,88$ μM (Liu *et al.*, 2014).

Berdasarkan penelitian tersebut, ekstrak jamur yang diisolasi dari tanah bisa dijadikan sebagai kandidat obat antikanker baru karena mampu menghasilkan metabolit aktif. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian terhadap tanah di Indonesia, mengingat bahwa Indonesia mempunyai keanekaragaman hayati yang luas dan tanah yang subur. Keanekaragaman ini akan berpengaruh pada komponen ekosistem tanah seperti mikroba dan jamur yang berbeda jenis pada setiap wilayah, sehingga metabolit sekunder yang dihasilkan juga akan bervariasi, maka peluang untuk mendapatkan metabolit aktif yang mampu menghambat pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7 masih sangat besar. Sel MCF-7 merupakan sel yang umum digunakan untuk menguji efek kanker payudara secara *in vitro* karena model terbaik dari semua jenis sel kanker payudara manusia (Widowati dan Mudahar, 2009). Berdasarkan latar belakang tersebut maka akan dilakukan penelitian uji antikanker ekstrak metanol jamur yang diisolasi dari tanah di Cilacap terhadap sel kanker MCF-7 secara *in vitro*.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Apakah ekstrak metanol jamur yang diisolasi dari tanah di Cilacap beserta media pertumbuhannya mempunyai efek antikanker terhadap sel MCF-7 secara *in vitro*?
2. Berapa nilai IC_{50} nya jika ekstrak jamur mempunyai efek antikanker?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah maka tujuan penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui efek antikanker ekstrak metanol jamur yang diisolasi dari tanah di Cilacap beserta media pertumbuhannya terhadap sel kanker MCF-7 secara *in vitro*.
2. Menentukan nilai IC_{50} dengan metode MTT *assay* jika ekstrak jamur mempunyai efek antikanker.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanah

a. Tanah dan mikroba tanah

Tanah merupakan dasar semua ekosistem darat dan tempat hidup bagi keanekaragaman makhluk hidup seperti bakteri, archaea, jamur, serangga, annelida, invertebrata, tanaman, dan ganggang. Metabolit mikroba tanah yang bervariasi mempengaruhi fungsi ekosistem tanah karena mikroba tanah dapat berkontribusi untuk mendaur semua elemen-elemen utama seperti karbon, nitrogen, dan fosfat (Aislabie and Deslippe, 2013).

Jamur merupakan salah satu mikroba tanah yang tergolong sebagai organisme heterotrofik karena makanan yang didapat berasal dari organisme lain yang telah membusuk. Dinding jamur terdiri dari glukukan dan kitin (Aislabie and

Deslippe, 2013). Jamur dapat menghasilkan berbagai macam metabolit seperti metabolit yang bersifat mudah menguap, non ribosomal peptida, poliketida, diketopiperazin, dan alkaloid. Metabolit tersebut terlibat dalam patogenisitas dan memiliki aktivitas antikanker (Mohamed, 2012).

Beberapa jamur yang memiliki aktivitas antikanker yaitu *Emericella nidulans* mengandung senyawa alkaloid yang mempunyai aktivitas antikanker terhadap *36 human tumor cell*. *Pestalofiasis fici* mengandung senyawa kromon, *Fusarium oxysporum* mengandung senyawa depsipeptida, dan *Eutipella* sp. mengandung senyawa lakton yang mempunyai aktivitas antikanker terhadap sel MCF-7 (Kharwar *et al.*, 2011).

b. Skrining tanah

Skrining tanah merupakan teknik analisis biologi tanah untuk mengetahui aktivitas mikroba maupun fauna tanah. Dalam melakukan skrining tanah, perlu diperhatikan beberapa hal yaitu teknik pengambilan sampel tanah, kedalaman pengambilan tanah, dan penyimpanan sampel tanah karena dapat mempengaruhi aktivitas mikroba dan komponen lainnya. Suhu yang paling tepat untuk menyimpan tanah selama satu bulan yaitu 2-4°C (Saraswati *et al.*, 2007).

Metode yang paling umum untuk skrining tanah yaitu metode agar cawan. Prinsip dari metode ini yaitu dilakukan pengenceran suspensi tanah yang mengandung mikroba agar bisa berkembang dan membentuk suatu koloni dalam kondisi lingkungan yang sesuai. Pengenceran suspensi tanah untuk mendapatkan jamur yaitu 10^{-2} - 10^{-5} , *actinomyces* yaitu 10^{-3} - 10^{-6} , dan bakteri yaitu 10^{-4} - 10^{-7} . Contoh media pertumbuhan yang dapat digunakan untuk membiakkan jamur yaitu agar streptomisin dan agar ekstrak *malt* (Saraswati *et al.*, 2007).

2. Kanker

a. Tinjauan umum kanker

Kanker adalah penyakit yang berpotensi membunuh terutama disebabkan oleh faktor lingkungan karena terjadi mutasi gen pengkode protein dalam regulasi sel. Hasil dari sel yang menyimpang kemudian menyebar untuk memperluas massa dari sel abnormal menuju sel normal yang kemudian merusak jaringan

normal disekitarnya dan menyebar ke organ-organ vital yang mengakibatkan penyakit disebarluaskan (Alison, 2001).

b. Penyebab kanker

Onkogen merupakan gen yang mengkode protein yang dapat mengubah sel normal menjadi sel kanker. Sel mempunyai proto-onkogen yang mengkode protein yang diperlukan untuk fungsi sel normal. Proto-onkogen mempunyai peran utama dalam regulasi siklus sel dan mengontrol pertumbuhan sel. Konversi proto-onkogen menjadi onkogen terjadi melalui berbagai cara dan biasanya adalah multi tahap yang didorong oleh karsinogen, agen kimia atau fisika yang menyebabkan kanker (O'day, 2009).

Virus tumor RNA mengandung onkogen yang merupakan bagian dari genomnya. Virus ini memperkenalkan onkogen ke dalam sel manusia ketika virus menginfeksi manusia. Protein yang dikodekan oleh onkogen mencakup faktor pertumbuhan, reseptor, dan efektor intraseluler manusia seperti Src, Ras dan Raf. Mutasi Ras adalah produk onkogen yang paling umum ditemukan pada tumor manusia (O'day, 2009).

c. Perkembangan sel kanker

Sel pada tumor dapat menyebar dan memisahkan diri dengan cara merusak jalur matriks ekstraselular kemudian memasuki aliran darah. Pada saat sel mencapai tempat yang mendukung keberadaan sel-sel tersebut, kemudian sel keluar dari aliran darah (ekstravasasi) dan berkembang sebagai tumor sekunder (metastasis) (O'day, 2009).

Tahap-tahap yang dilalui dalam metastasis antara lain:

- 1) Sel memisahkan diri dari tempat pertumbuhan awal.
- 2) Sel menembus membran basal dan menyebar melalui pembuluh darah.
- 3) Sel melakukan mobilitas atau pergerakan melalui sistem peredaran darah.
- 4) Pembentukan koloni baru (O'day, 2009).

3. Kanker payudara

Kanker payudara adalah tumor ganas yang diawali di sel-sel payudara. Tumor ganas merupakan sekelompok sel-sel kanker yang dapat tumbuh dan menyerang jaringan sekitarnya atau menyebar ke bagian tubuh yang lain

(metastasis). Penyakit ini terjadi hampir seluruhnya pada wanita (American Cancer Society, 2014).

Penyebab yang paling umum terjadinya kanker payudara hereditas yaitu terjadinya mutasi gen *BRCA 1* dan *BRCA 2*. Pada sel normal, gen *BRCA 1* dan *BRCA 2* mencegah terjadinya kanker dengan memproduksi protein yang dapat menjaga pertumbuhan sel yang tidak normal. Kanker payudara yang terjadi karena mutasi gen *BRCA 1* dan *BRCA 2* lebih sering terjadi pada wanita yang lebih muda dan lebih sering mempengaruhi kedua payudara (American Cancer Society, 2014).

4. Sel MCF-7

Sel MCF-7 singkatan dari *Michigan Cancer Foundation-7* merupakan sel kanker payudara manusia yang pertama kali diisolasi pada tahun 1970 dari jaringan adenokarsinoma ganas pada payudara seorang wanita berusia 69 tahun. Sel MCF-7 digunakan untuk penelitian kanker payudara *in vitro* karena *cell line* mempunyai beberapa karakteristik yang ideal khususnya pada epitel payudara. Sel MCF-7 mempunyai kemampuan untuk memproses estrogen melalui reseptor estrogen. Sel MCF-7 juga sensitif terhadap sitokeratin. Ketika tumbuh secara *in vitro*, *cell line* mampu membentuk kubah dan epitel sel tumbuh dalam monolayer. Pertumbuhan sel MCF-7 dapat dihambat oleh *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF *alpha*) (Biolabs, 2010).

Sel kanker MCF-7 memiliki karakteristik overekspresi PgP, overekspresi Bcl-2 dan tidak mengekspresikan caspase-3 sehingga mampu menghindari apoptosis (Simstein *et al.*, 2003). Resistensi sel MCF-7 terhadap obat dapat terjadi melalui mekanisme pengeluaran obat oleh pompa protein pada membran sel, inaktivasi obat, kegagalan inisiasi apoptosis, dan mutasi target obat (Notarbartolo *et al.*, 2005). Resistensi sel MCF-7 terhadap doksorubisin dapat terjadi melalui berbagai mekanisme, yaitu pemberian doksorubisin pada sel MCF-7 menunjukkan adanya aktivasi Raf-1 (terfosforilasi) secara berlebihan sehingga Raf-1 menginduksi gen MDR-1 untuk mengekspresikan PgP yang merupakan suatu transporter membran plasma yang memompa keluar doksorubisin dari sel (Nabekura *et al.*, 2005). Kegagalan inisiasi apoptosis doksorubisin terhadap MCF-

7 disebabkan oleh doksorubisin yang tidak mampu melakukan penekanan terhadap Bcl-2 yang diekspresikan oleh sel MCF-7 (Meiyanto *et al.*, 2009).

5. Uji Sitotoksik

Uji sitotoksitas merupakan suatu uji yang digunakan untuk mengetahui efek toksik suatu bahan terhadap jaringan dalam suatu kultur secara langsung. Ada berbagai metode yang digunakan untuk menguji sitotoksitas suatu bahan yaitu metode MTT *assay*, metode pewarnaan dengan *trypan blue*, dan metode pembebasan isotop kromiun (Siregar dan Hadijono, 2000). Metode yang paling sering digunakan untuk menetapkan jumlah sel hidup dalam uji sitotoksik yaitu metode MTT *assay* (CCRC, 2013). Kelebihan metode MTT *assay* yaitu ujinya cukup sensitif, cepat, semiotomatis, dapat untuk mengukur sampel yang banyak dalam satu waktu, dan tidak menggunakan isotop radioaktif (Siregar dan Hadijono, 2000).

Prinsip metode MTT adalah terjadi reduksi dari garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetil thiazol-2il)-2,5-difenil tetrazolium bromida) oleh sel-sel yang aktif secara metabolik dengan melibatkan enzim dehidrogenase (ATCC, 2011). Suksinat tetrazolium juga berperan dalam respirasi di mitokondria sel-sel hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu yang tidak larut air. Penambahan reagen SDS (*Sodium Dodesil Sulfat*) akan melarutkan kristal sehingga absorbansinya dapat diukur menggunakan ELISA *reader*. Intensitas warna ungu yang terbentuk berbanding lurus dengan jumlah sel hidup (CCRC, 2013).

E. Keterangan Empiris

Penelitian tentang antikanker dari isolat jamur tanah masih terbatas di Indonesia, tetapi di luar negeri sudah pernah dilakukan oleh beberapa peneliti. Liu *et al.* (2014) mengisolasi jamur *Eutipella* sp. D-1 dari tanah lintang tinggi Arktik yang mempunyai nilai IC_{50} sebesar 9,88 μ M terhadap sel MCF-7. Ramos *et al.* (2016) mengisolasi jamur *Neosartorya fischeri* dari tanah hutan tepi pantai mempunyai nilai IC_{50} sebesar 189 μ g/mL terhadap sel MCF-7. Hani dan Eman,

(2015) mengisolasi jamur *Chaetomium globosum* dari tanah mesir mempunyai nilai IC_{50} sebesar 189 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel MCF-7. Berdasarkan keterangan tersebut maka hasil penelitian ini diharapkan dapat memperoleh data ilmiah efek antikanker ekstrak metanol jamur yang diisolasi dari tanah dengan lima ekosistem yang berbeda yaitu tanah di sekitar peternakan ayam, tepi sungai, sawah, hutan, dan pegunungan di Kabupaten Cilacap beserta media pertumbuhannya terhadap sel kanker MCF-7.